

## **DISERTASI**

**PENGARUH PEMBERIAN ACTH<sub>4-10</sub>PRO<sup>8</sup>GLY<sup>9</sup>PRO<sup>10</sup>  
TERHADAP MEDIATOR PROINFLAMASI  
TLR, NF- $\kappa$ B, IL-8, TNF- $\alpha$ , DAN NEUTROFIL PADA  
JARINGAN *SPINAL CORD* YANG MENGALAMI CEDERA  
KOMPRESI AKUT**

**Studi Eksperimental pada Tikus Sprague-Dawley Model *Spinal Cord Injury***



**MUHAMMAD FARIS**

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN JENJANG DOKTOR  
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2020**

# **DISERTASI**

**PENGARUH PEMBERIAN ACTH<sub>4-10</sub>PRO<sup>8</sup>GLY<sup>9</sup>PRO<sup>10</sup>  
TERHADAP MEDIATOR PROINFLAMASI  
TLR, NF- $\kappa$ B, IL-8, TNF- $\alpha$ , DAN NEUTROFIL PADA  
JARINGAN *SPINAL CORD* YANG MENGALAMI CEDERA  
KOMPRESI AKUT**

**Studi Eksperimental pada Tikus Sprague-Dawley Model *Spinal Cord Injury***

**MUHAMMAD FARIS**

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN JENJANG DOKTOR  
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2020**

**PENGARUH PEMBERIAN ACTH<sub>4-10</sub>PRO<sup>8</sup>GLY<sup>9</sup>PRO<sup>10</sup> TERHADAP  
MEDIATOR PROINFLAMASI  
TLR, NF-kB, IL-8, TNF- $\alpha$ , DAN NEUTROFIL PADA JARINGAN SPINAL  
CORD YANG MENGALAMI CEDERA KOMPRESI AKUT**

**Studi Eksperimental pada Tikus Sprague-Dawley Model *Spinal Cord Injury***

**DISERTASI**

**Untuk memperoleh Gelar Doktor  
dalam Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor  
pada Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga  
dan dipertahankan di hadapan  
Panitia Ujian Doktor Terbuka**

**Pada hari : Selasa**

**Tanggal : 3 Maret 2020**

**Pukul : 10.00 WIB**

**Oleh:**

**MUHAMMAD FARIS**

**011317017327**

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN JENJANG DOKTOR  
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2020**

LEMBAR PENGESAHAN

DISERTASI

PENGARUH PEMBERIAN ACTH<sub>4-10</sub>PRO<sup>8</sup>GLY<sup>9</sup>PRO<sup>10</sup>  
TERHADAP MEDIATOR PROINFLAMASI TLR, NF- $\kappa$ B, IL-8, TNF- $\alpha$ , DAN  
NEUTROFIL PADA JARINGAN *SPINAL CORD* YANG MENGALAMI  
CEDERA KOMPRESI AKUT  
Studi Eksperimental pada Tikus Sprague-Dawley Model *Spinal Cord Injury*

TELAH DISETUJUI

PADA TANGGAL 17 FEBRUARI 2020

Oleh

Promotor



Prof. Dr. Abdul Hafid Bajamal, dr., Sp.BS (K)  
NIP. 19490408 197610 1 003

Ko-Promotor



Prof. Dr. Moh. Hasan Machfoed, dr., Sp.S (K), M.S.  
NIP. 19490408 197610 1 003

**Disertasi ini telah diuji dan dinilai  
oleh panitia penguji Ujian Tahap 1 (Tertutup)  
pada Tanggal 29 Januari 2019**

**Panitia penguji:**

- Ketua : 1. Prof. Dr. Yoes Prijatna Dachlan, dr., M.Sc., Sp.Par (K)
- Anggota : 2. Prof. Dr. Abdul Hafid Bajamal, dr., Sp.BS (K)
3. Prof. Dr. Moh. Hasan Machfoed, dr., Sp.S (K), M.S.
4. Prof. Dr. I Ketut Suidiana, Drs., M.Si
5. Prof. Dr. Sri Maliawan, dr., Sp.BS (K), FICS
6. Dr. Asra Al Fauzi, dr., SE., MM., Sp.BS (K), FICS, IFAANS
7. Dr. H. Budi Utomo, dr., M.Kes

Ditetapkan dengan Surat Keputusan  
Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga  
Tentang Panitia Penguji Disertasi

Nomor : 44/UN3.1.1/HK.04/2020

29 Januari 2020

## UCAPAN TERIMA KASIH

Bismillahirrahmannirrahim,

Assalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh,

Alhamdulillah rabbil 'alamin, segala puji syukur ke hadirat Allah SWT yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang atas segala rahmat dan karunia yang telah dilimpahkan sehingga amanah untuk menjalani seluruh proses pendidikan, penelitian dan penyusunan disertasi yang berjudul **Pengaruh Pemberian ACTH<sub>4-10</sub>PRO<sup>8</sup>GLY<sup>9</sup>PRO<sup>10</sup> Terhadap Mediator Proinflamasi TLR, NF-K $\kappa$ B, IL-8, TNF- $\alpha$ , DAN Neutrofil pada Jaringan *Spinal Cord* yang Mengalami Cedera Kompresi Akut (Studi Eksperimental pada Tikus Sprague-Dawley Model *Spinal Cord Injury*)** dapat diselesaikan hingga tahap sekarang ini.

Disertasi ini dapat diselesaikan tidak lepas dari dorongan, bimbingan, arahan, saran dan koreksi dari Promotor, Ko-Promotor, Tim Penguji dan banyak pihak yang dengan atau tanpa disadari menjadi inspirasi dan pendukung proses pendidikan ini. Oleh karena itu dengan segala kerendahan hati, perkenankan saya menghaturkan terima kasih yang tulus serta penghargaan yang setinggi-tingginya kepada yang terhormat:

**Prof. Dr. Abdul Hafid Bajamal, dr., Sp.BS(K)**., sebagai Promotor yang dengan penuh pengertian, perhatian dan kesabaran telah memberikan dukungan mental, meluangkan banyak waktu untuk berdiskusi dan memberikan masukan, memberi ruang kreatif yang cukup luas, dan banyak kemudahan kepada saya untuk menjalani seluruh proses pendidikan ini. Sekali lagi saya sampaikan hormat dan terima kasih yang tulus dan mendalam;

**Prof. Dr. Moh. Hasan Machfoed, dr., Sp.S (K), M.S**, sebagai Pembimbing Akademik dan Ko-Promotor yang banyak memberikan masukan penting dan sangat mendasar sesuai bidang keahliannya yang sangat bermanfaat bagi peningkatan mutu disertasi ini. Ketelitian dan kedalaman proses berpikir beliau turut membentuk penelitian dan disertasi ini. Selain itu, ucapan terima kasih yang tulus dan mendalam juga saya sampaikan kepada beliau selaku Guru dan Senior saya;

**Prof. Dr. Moh. Nasih, S.E., MT., Ak.** selaku Rektor Universitas Airlangga; **Prof. Dr. Fasichul Lisan, Apt**, selaku mantan Rektor Universitas Airlangga, atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada penulis untuk mengikuti dan menyelesaikan studi pada Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga;

**Prof. Dr. Soetojo, dr., Sp.U (K)** selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga dan **Prof. Dr. Agung Pranoto, dr., M.Kes.,Sp.PD., K-EMD, FINASIM** selaku mantan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada penulis untuk mengikuti dan menyelesaikan studi pada Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga;

**Prof. Dr. Joewono Soeroso, dr, M.Sc, SpPD-KR, FINASIM** selaku Koordinator Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, dan **Prof. Dr. Teddy Ontoseno, dr., SpA(K), Sp.JP., FIHA**, selaku mantan Koordinator Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang

Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, yang telah memberikan fasilitas dan dukungan bagi penulis selama menjalani dan menyelesaikan pendidikan di Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga;

**Dr. Joni Wahyuhadi, dr., Sp.BS(K)** selaku Direktur Utama RSUD Dr. Soetomo, dan **Harsono, dr.**, serta **Dodo Anondo, dr., MPH** selaku mantan Direktur RSUD Dr. Soetomo, yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk mengikuti pendidikan Program Doktor pada Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga;

**Dr. Agus Turchan, dr., Sp.BS (K)** selaku Ketua Departemen Ilmu Bedah Saraf Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, yang telah memberikan kesempatan dan dorongan kepada saya untuk mengikuti pendidikan Program Doktor pada Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga;

Seluruh senior, guru, sejawat, dan saudara saya di Departemen Bedah Saraf: **Prof. Basoeki Wirjowidjojo, dr., Sp.BS (K) (alm)**, **Prof. H.M. Sajid Darmadipura, dr., Sp.BS (K)**, **Prof. Dr. Umar Kasan, dr., Sp.BS (K) (alm.)**, **Prof. Dr. Abdul Hafid Bajamal, dr, Sp.BS (K)**, **Dr. M. Arifin Parenrengi, dr, Sp.BS (K)**, **Dr. Joni Wahyuhadi, dr., Sp.BS (K)**, **Dr. Eko Agus Subagio, dr., Sp.BS (K)**, **Dr. Asra Al Fauzi, dr., Sp.BS (K)**, **Dr. Wihasto Suryaningtyas, dr., Sp.BS (K)**, **Dr. Rahadian I. Susilo, dr., Sp.BS (K)**, **Ahmad Fahmi, dr., Sp.BS (K)**, **Irwan Barlian Immadoel Haq, dr., Sp.BS (K)**, **Nur Setiawan Suroto, dr., Sp.BS (K)**, **Tedy Apriawan, dr., Sp.BS (K)**, **Heri Subianto, dr., Sp.BS (K)**, saya mengucapkan terima kasih atas ilmu, doa dan dukungannya. Begitu pula untuk saudara-saudara saya di *Surabaya Neuroscience Institute* antara lain **Let.Kol (Laut) Amiril Mukminin, dr., Sp.BS**, **Ananda Haris, dr., SpBS**, **Erliano, dr., Sp.BS**, **Zaky Bajamal, dr., Sp.BS**;

Tim Penguji Kualifikasi, Usulan Penelitian dan penialaian Disertasi yaitu **Prof. Dr. Yoes Prijatna Dachlan, dr., M.Sc., Sp.Par (K)**, **Prof. Dr. Abdul Hafid Bajamal, dr., Sp.BS (K)**, **Prof. Dr. Moh. Hasan Machfoed, dr., Sp.S (K)**, **M.S, Prof. Dr. I Ketut Suidiana, Drs., M.Si**, **Prof. Dr. Sri Maliawan, dr., Sp.BS (K)**, **FICS**, **Dr. Asra Al Fauzi, dr., SE., MM., Sp.BS (K)**, **FICS**, **IFAANS**, **Dr. H. Budi Utomo, dr., M.Kes**, dan **Dr. Nurwasis, dr., Sp.M (K)** yang banyak memberikan masukan penting dan sangat mendasar sesuai bidang keahliannya yang sangat bermanfaat bagi peningkatan mutu disertasi ini;

**Prof. Dr. I Ketut Suidiana, Drs., M.Si** Ketua Lab Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Unit Mikroskop elektron dan **Endah Sujani, S.Si**, **Ayundha Rizky Fitrianti, S.KM**, **Pak Mukid** yang telah membantu dalam interpretasi hasil dan penyediaan fasilitas mikroskop beserta perangkatnya;

Semua **staf pengajar** pada Program Doktor pada Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang telah memberikan ilmu dasar dan ilmu terapan yang sangat bermanfaat serta kritik, saran dan perbaikan pada proposal penelitian untuk penulisan disertasi penulis sampai akhirnya disertasi ini dapat terselesaikan;

**Seluruh rekan Angkatan 2013** pada Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang telah bekerja sama dan saling memberikan motivasi untuk menyelesaikan pendidikan ini;

**Dra. Retno Rifianti Adiputri, Lita Andari Willianti, SE, R. Endi Winardi, Arief Rosidi, Fika Wulansari, S.I.Kom, dan Muhammad Thoyib Achmad Salim, S.H, S.P** yang banyak membantu administrasi di Departemen Bedah Saraf;

Staf pendidikan di Program Studi Ilmu Kedokteran Jengjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga: **Dr. Soetopo, drg., M.Sc, Dr. Reny I'tishom, M.Si, bu Asmunah, S.Sos, mbak Adhdriyani, SE, mbak Fitriya Diah Isnaini, A.Md, mbak Paramita Kurnia Sari, A.Md, dan mas Sobkhi Mafakhir** yang telah sangat membantu kelancaran administrasi selama pendidikan;

**Peserta didik** Program Spesialis Ilmu Bedah Saraf yang telah banyak membantu baik secara langsung maupun tidak langsung sehingga disertasi ini dapat kami selesaikan.

Persembahkan terima kasih yang tulus, rasa hormat dan sembah sujud ananda kepada **Ayah** saya **Abdullah AbdulKadir Faris** dan **Ibu** saya **Aminah Ahmad Baraja'** yang telah melahirkan saya dan yang telah membesarkan saya dengan segala kurang lebihnya. Juga kepada kedua **mertua** saya **Prof. Dr. Abdul Hafid Bajamal, dr., Sp.BS (K)** dan **Hayah Thalib**. Hanya doa dan rasa terima kasih untuk hutang budi yang tak mungkin dapat terbalas dengan apapun;

Kepada istri saya **Zulfa Bajamal** yang telah dengan sangat sabar mendampingi saya dan anak-anak saya **Rasha** dan **Abdurrahman** yang kepada mereka semua saya berhutang banyak waktu dan kebahagiaan;

Kepada adik saya **Munirah Faris** yang selalu memberikan motivasi serta selalu mendoakan;

Penulis juga menyampaikan terima kasih kepada semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu, yang telah memberi motivasi, dukungan dan membantu hingga disertasi ini dapat terselesaikan.

Dengan segenap kerendahan hati, penulis menyadari bahwa dalam penulisan disertasi ini masih banyak kekurangan sehingga penulis mohon maaf sebesar-besarnya atas segala kekurangan tersebut. Semoga hasil penelitian ini bermanfaat bagi umat manusia pada umumnya dan ilmu kedokteran pada khususnya, semoga Allah SWT melimpahkan taufik dan hidayah-Nya kepada semua pihak yang telah membantu penyelesaian disertasi ini. Amin ya rabbal 'alamin.

Wassalamu'alaikum wr.wb.

Surabaya, Februari 2020

Penulis



## RINGKASAN

**Pengaruh Pemberian ACTH<sub>4-10</sub>PRO<sup>8</sup>GLY<sup>9</sup>PRO<sup>10</sup> Terhadap Mediator  
Proinflamasi TLR, NF-kB, IL-8, TNF- $\alpha$ , dan Neutrofil pada  
Jaringan *Spinal Cord* yang Mengalami Cedera Kompresi Akut  
(Studi Eksperimental pada Tikus Sprague-Dawley Model *Spinal Cord Injury*)**

*Acute Spinal Cord Injury* (SCI) merupakan suatu peristiwa trauma yang mengakibatkan gangguan pada fungsi sensoris, motoris, atau fungsi otonom dan berpengaruh pada kondisi pasien secara sosial, fisik maupun psikologis (Fehlings 2017). SCI menjadi permasalahan kesehatan masyarakat dan peristiwa yang berat bagi individu karena menyebabkan disfungsi motorik/sensorik permanen dan secara signifikan menurunkan kualitas hidup (Okada, 2016). Di salah satu negara di Asia yaitu Jepang kejadian SCI yaitu sekitar 40 per 1 juta individu per tahun. Berdasar sebuah studi lokal di salah satu rumah sakit di Jakarta pada tahun 2014 terdapat 104 kasus SCI (Tulaar, 2017). Sedangkan angka insidensi secara global dari SCI adalah sekitar 40 hingga 80 kasus baru per 1 juta populasi setiap tahunnya.

Manajemen pasien pada kasus SCI telah berubah secara drastis selama abad yang lalu sebagai hasil dari peningkatan pengetahuan tentang mekanisme cedera, patofisiologi penyakit, medikamentosa, rehabilitasi medis serta tindakan operasi. Namun, dalam hal penanganan masih menjadi perdebatan, termasuk penggunaan kortikosteroid seperti metilprednisolon natrium suksinat (MPSS), waktu optimal intervensi bedah, jenis dan waktu profilaksis antikoagulasi, peran magnetic resonance imaging (MRI), dan jenis serta waktu rehabilitasi. Kurangnya konsensus ini telah menyulitkan standarisasi perawatan (Fehlings *et al.*, 2017).

Belum ada pedoman bedah yang secara ketat mengeksplorasi manfaat dari tindakan bedah yang dilakukan pada fase awal atau lanjut untuk SCI. Cukup banyak modalitas terapi yang telah dikembangkan seperti terapi hormonal (estrogen, progesterone, HCG), asam folat, naftidrofuryl oxalate yang masih dalam penelitian untuk SCI akut baik mempengaruhi atau dipengaruhi reaksi inflamasi pascatrauma (De Backer *et al.*, 2009; Kronenberg and Endres, 2010; Stammers, Liu and Kwon, 2012; Kramer, Freund and Curt, 2014). Penatalaksanaan secara medikamentosa saat ini terfokus pada penggunaan steroid yang masih menjadi perdebatan. *National Acute SCI Study* (NASCIS) adalah studi multisenter berbentuk RCT double-blinded yang meneliti pengaruh steroid pada SCI. NASCIS I pada 1984 mendapatkan tidak ada perbedaan dalam perbaikan yang diamati antara kelompok dosis tinggi dan rendah (Bracken *et al.*, 1984). NASCIS II pada 1990 adalah menyatakan tidak adanya perbedaan dalam skor motorik atau sensorik yang diamati ketika membandingkan hasil dari kelompok penelitian (Bracken, 2012). Percobaan terakhir, NASCIS 3 tahun 1997 mengevaluasi 499 pasien yang diberi dosis Metil Prednisolon 30 mg / kg dalam delapan jam, menunjukkan tidak adanya perbedaan signifikan dalam pemulihan neurologis (Bracken, 2012).

Mediator pro-inflamasi berperan penting dalam proses SCI. TLR merupakan salah satu bentuk PRR yang diekspresikan dalam mikroglia dan

astrosit dalam SSP. TLR sendiri dapat mengenali pola *danger-associated molecular patterns* (DAMPs) ketika distress sel terjadi. Manusia memiliki 10 TLR dan 22 NLR, sedangkan tikus memiliki 12 TLR dan 34 NLR. Salah satu contoh ligan TLR adalah TLR2 dan TLR4. Neutrofil pada SCI berpotensi menimbulkan efek merugikan. Akumulasi neutrofil yang lebih rendah pada lesi dikaitkan dengan berkurangnya sitokin proinflamasi, berkurangnya apoptosis dan stres oksidatif serta pemulihan motorik yang signifikan. Peran jalur pensinyalan NF- $\kappa$ B dikaitkan dalam hal ini, baik dalam invasi neutrofil dan aktivitas neutrofil dalam lesi. (Kang *et al.*, 2011). Tujuan penelitian ini adalah menjelaskan pengaruh pemberian ACTH 4-10 terhadap penurunan ekspresi TLR-2, NF- $\kappa$ B, IL-8, TNF- $\alpha$ , dan Neutrofil pada hewan coba Tikus Sprague-Dawley dengan perlakuan SCI.

Penelitian kami menunjukkan perbandingan nilai median ekspresi *TLR-2* pada kelompok ACTH 4-10 3 jam (median 0,2) memberikan hasil yang berbeda signifikan ( $p < 0,05$ ) terhadap kelompok Aquades 3 jam (median 2,5). Namun perbandingan antar kelompok perlakuan ACTH 4-10 pada observasi 3 jam dan 6 jam tidak menghasilkan perbedaan yang bermakna ( $p > 0,05$ ) yang menunjukkan bahwa ACTH 4-10 telah mencapai potensinya pada observasi 3 jam dan tidak berpengaruh secara signifikan terhadap ekspresi *TLR-2* pada jam selanjutnya. Hal ini membuka penelitian lebih lanjut untuk meneliti lebih jauh mengenai waktu pemberian dan dosis tambahan guna mempotensiasi efek antiinflamasi yang dapat ditimbulkan. Hasil analisis statistik menunjukkan perbedaan yang paling bermakna pada ekspresi *NF- $\kappa$ B* dalam pengamatan waktu 3 jam. Penelitian kami menunjukkan perbandingan nilai median ekspresi *IL-8* pada kelompok ACTH 4-10 3 jam (median 0,55) memberikan hasil yang berbeda signifikan ( $p < 0,05$ ) terhadap kelompok Aquades 3 jam (median 1,15). Analisis statistik membuktikan perbedaan yang bermakna terhadap kemoatraktan tersebut pasca pemberian obat. Rerata kadar *TNF- $\alpha$*  yang terukur meningkat pada kelompok cedera dibandingkan dengan kontrol. Rerata kelompok aquades 3 jam memiliki nilai ekspresi *TNF- $\alpha$*  yang lebih tinggi secara bermakna ( $p < 0,05$ ) bila dibandingkan dengan kelompok ACTH 4-10 3 jam. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kelompok pemberian ACTH 4-10 memberikan ekspresi *TNF- $\alpha$*  yang lebih rendah dibandingkan dengan kelompok aquades pada observasi 6 jam. Hasil tersebut secara empiris membuktikan bahwa ekspresi *TNF- $\alpha$*  menurun setelah pemberian ACTH4-10. Penelitian kami menunjukkan perbandingan median jumlah neutrofil pada kelompok ACTH 4-10 6 jam (median 0,05) memberikan hasil yang berbeda namun tidak signifikan ( $p > 0,05$ ) terhadap kelompok Aquades 6 jam (median 0,2). Temuan lain yang menjadi perhatian adalah hasil neutrofil yang terkesan rendah pada hasil pewarnaan HE dari penelitian kami. Temuan ini selaras dengan temuan dari studi yang dilakukan Machado *et al.* dimana didapatkan neutrofil yang relatif rendah pada jaringan medula spinalis dibandingkan dengan kadar dalam darah hewan coba pasca injeksi ACTH.

Pemberian ACTH 4-10 intranasal mampu mencapai lokasi cedera pada medula spinalis. ACTH 4-10 intranasal akan mengalami penyerapan melalui mukosa yang berlanjut dengan melalui jalur para-seluler menembus lamina propria menuju nervus olfaktorius. ACTH 4-10 melewati nervus olfaktorius menuju lemak perineural yang kemudian sampai di rongga perineural dan menyebar melalui LCS menuju lokasi cedera medula spinalis pada hewan coba

tikus model cedera medula spinalis. Efek antiinflamasi ditandai dengan penurunan ekspresi sitokin inflamasi dan jumlah neutrofil paska pewarnaan pada jaringan medula spinalis. ACTH 4-10 mempunyai potensi sebagai tatalaksana baru dalam penanganan *spinal cord injury*.

**SUMMARY****Effect of ACTH<sub>4-10</sub>PRO<sup>8</sup>GLY<sup>9</sup>PRO<sup>10</sup> Administration towards Proinflammatory Mediators TLR, NF- $\kappa$ B, IL-8, TNF- $\alpha$ , and Neutrophil on Acute Compression of the Spinal Cord (An Experimental Study on Sprague-Dawley Rat Spinal Cord Injury Model)**

Acute Spinal Cord Injury (SCI) is a traumatic event that results in disturbance to sensory, motoric, or autonomic functions and affects the patient's social, physical or psychological condition (Fehlings 2017). SCI becomes a public health problem and a severe event for individuals because it causes permanent motor / sensory dysfunction and significantly reduces quality of life (Okada, 2016). In one country in Asia, Japan, the incidence of SCI is around 40 per 1 million individuals per year. Based on a local study in one hospital in Jakarta in 2014 there were 104 cases of SCI (Tulaar, 2017). Whereas the global incidence rate from SCI is around 40 to 80 new cases per 1 million population each year.

Patient management in SCI cases has changed drastically over the past century as a result of increasing knowledge about the mechanism of injury, pathophysiology of disease, medical, medical rehabilitation and surgery. However, in terms of treatment there is still debate, including the use of corticosteroids such as methylprednisolone sodium succinate (MPSS), the optimal time of surgical intervention, the type and timing of anticoagulation prophylaxis, the role of magnetic resonance imaging (MRI), and the type and time of rehabilitation. This lack of consensus has made it difficult to standardize care (Fehlings et al., 2017).

There are no surgical guidelines that strictly explore the benefits of surgical procedures performed in the early or advanced phase for SCI. Quite a number of therapeutic modalities have been developed such as hormonal therapy (estrogen, progesterone, HCG), folic acid, naphthidrofuryl oxalate which are still under study for acute SCI to either influence or be affected by post-traumatic inflammatory reactions (De Backer et al., 2009; Kronenberg and Endres, 2010; Stammers, Liu and Kwon, 2012; Kramer, Freund and Curt, 2014). Medical management is currently focused on steroid use which is still being debated. The National Acute SCI Study (NASCIS) is a multicenter, double-blinded RCT study that examines the effect of steroids on SCI. NASCIS I in 1984 found no difference in improvement observed between the high and low dose groups (Bracken et al., 1984). NASCIS II in 1990 stated that no differences in motor or sensory scores were observed when comparing results from the study group (Bracken, 2012). The last trial, NASCIS 3 in 1997 evaluated 499 patients who were given a dose of Methyl Prednisolone 30 mg / kg in eight hours, showing no significant difference in neurological recovery (Bracken, 2012).

Pro-inflammatory mediators play an important role in the SCI process. TLR is a form of PRR expressed in microglia and astrocytes in the CNS. TLR itself can recognize danger-associated molecular patterns (DAMPs) when cell distress occurs. Humans have 10 TLR and 22 NLR, while rats have 12 TLR and 34 NLR. One example of TLR ligands is TLR2 and TLR4. Neutrophils in SCI

have the potential to cause adverse effects. Lower neutrophil accumulation in lesions is associated with reduced proinflammatory cytokines, reduced apoptosis and oxidative stress and significant motor recovery. The role of the NF- $\kappa$ B signaling pathway is related in this regard, both in neutrophil invasion and neutrophil activity in the lesion. (Kang et al., 2011). In macro and microglial cells, post-lesion NF- $\kappa$ B activation triggers a permissive growth program that contributes to nerve tissue inflammation, scar formation, and expression of axonal growth inhibitors. Pro-inflammatory cytokines IL-1, IL-6, IL-8, and TNF- $\alpha$ . The purpose of this study was to explain the effect of ACTH 4-10 administration on decreased expression of TLR-2, NF- $\kappa$ B, IL-8, TNF- $\alpha$ , and Neutrophils in experimental animals of the Sprague-Dawley Rat with SCI treatment.

Our study showed a comparison of the median TLR-2 expression values in the ACTH group 4-10 3 hours (median 0.2) gave significantly different results ( $p < 0.05$ ) against the Aquades group 3 hours (median 2.5). However, the comparison between ACTH 4-10 treatment groups at 3 hours and 6 hours observations did not produce a significant difference ( $p > 0.05$ ) which showed that ACTH 4-10 had reached its potential at 3 hours observation and had no significant effect on TLR expression -2 in the next hour. This opens up further research to further investigate the timing of administration and additional doses to potentiate the anti-inflammatory effects that can be caused. The results of statistical analysis showed the most significant difference in the expression of NF- $\kappa$ B in the observation time of 3 hours. Astrocyte activation through the transcription factor NF- $\kappa$ B which increases phagocytosis through the NADPH oxidation pathway which leads to an increase in reactive oxygen species (ROS) (Barakat et al., 2012). Our study showed a comparison of the median value of IL-8 expression in the ACTH group 4-10 3 hours (median 0.55) gave significantly different results ( $p < 0.05$ ) against the Aquades group 3 hours (median 1.15). Statistical analysis proved a significant difference in the chemo-practice after drug administration. Mean TNF- $\alpha$  levels were measured to be increased in the injury group compared to controls. The average of the 3-hour aquades group had significantly higher TNF- $\alpha$  expression values ( $p < 0.05$ ) when compared to the ACTH group 4-10 3 hours. The results of this study indicate that the ACTH 4-10 group gave TNF- $\alpha$  expression which was lower than the aquades group at 6 hours observation. These results empirically prove that TNF- $\alpha$  expression decreases after administration of ACTH4-10. Our study shows a comparison of the median neutrophil count in the ACTH group 4-10 6 hours (median 0.05) gives different but not significant results ( $p > 0.05$ ) against the Aquades group 6 hours (median 0.2). Another finding of concern is the result of neutrophils which seem low on the results of HE staining from our study. These findings are consistent with findings from a study by Machado et al. which found relatively low neutrophils in the spinal cord tissue compared with blood levels in animals after ACTH injection. Administration of ACTH 4-10 can reach the site of injury in the spinal cord on intranasal administration. Intranasal ACTH 4-10 administration will experience absorption through the mucosa which is hydrophilic. Absorption continues through the para-cellular pathway through the lamina propria to the olfactory nerve. ACTH 4-10 passes through the olfactory nerve to perineural fat which then reaches the perineural cavity and spreads through the CSF to the location of spinal cord injury in animal models of spinal cord injury. The antiinflammatory effect of ACTH 4-10 is characterized by a

decrease in the expression of inflammatory cytokines and the number of post-staining neutrophils in spinal cord tissue.